

福建地区小叶买麻藤遗传多样性 ISSR 分析

黄姝博¹, 胡永红², 吴冬¹, 田旗², 李宏庆^{1*}

(1. 华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062; 2. 上海植物园, 上海 200231)

摘要: 采用 13 条 ISSR 引物对福建地区小叶买麻藤 11 个种群共 211 个样本进行了种群遗传多样性检测。结果表明:(1)小叶买麻藤在物种水平上遗传多样性较高而在种群水平上较低,揭示该物种具有较强的生存、适应、发展潜力,但其种群遗传多样性已经受到生境片段化及人为活动的影响;(2)小叶买麻藤的遗传分化在裸子植物中处于中等水平,选择和基因流对种群遗传分化的作用大于遗传漂变的作用;(3)小叶买麻藤种群退化主要受人类活动影响,影响的时间较短,尚未表现出种群遗传结构的改变。

关键词: 小叶买麻藤; 遗传多样性; 遗传结构; 种群退化

中图分类号: Q949.67 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)05-0601-07

Genetic diversity of *Gnetum parvifolium* of Fujian by ISSR Markers

HUANG Shu-Bo¹, HU Yong-Hong², WU Dong¹, TIAN Qi², LI Hong-Qing^{1*}

(1. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200231, China)

Abstract: Thirteen ISSR primers were selected to reveal the population genetic diversity of *Gnetum parvifolium* in Fujian. 211 samples across 11 populations were examined. The results showed that:(1)*G. parvifolium* exhibited comparatively high genetic diversity at species level while comparatively low at population level, indicating that this species had a strong potential for survival, adaptation and expansion, but its population genetic diversity had been effected by habitat fragmentation and human activity;(2)the genetic differentiation of *G. parvifolium* was among the moderate level of gymnosperm, which was mainly caused by selection pressure and gene flow instead of genetic drift;(3)human activities contributed to the population degradation of *G. parvifolium*, but this degradation had little detectable effect on the genetic structure of the target species due to limited impactive time.

Key words: *Gnetum parvifolium*; genetic diversity; genetic structure; population degradation

两亿五千万年前,买麻藤目(Gnetales)几乎遍布世界各地(Won,2005),而现代仅存单科单属且分布较为局限。买麻藤属(*Gnetum*)分布于亚洲、非洲及南美洲的热带及亚热带地区。在中国,买麻藤属植物早在 1500 年前就已入药,民间用于治疗风湿、腰痛、跌打损伤、溃疡、气管炎、刀枪伤、蛇伤等(王健伟等,2006)。非洲许多国家亦有买麻藤属植物药用

的记载(Watt 等,1962;Burkill 等,1994)。现代研究表明,买麻藤属植物含有芪类、生物碱类、挥发油类、黄酮类化合物等成分,具有抗菌消炎、抑制肿瘤坏死因子的活性,抑制环氧酶活性、抗氧化、保肝、平喘、抗过敏和抗蛇毒等作用(王健伟等,2006)。此外,买麻藤属植物的纤维可编制绳索,树液可作清凉饮料,叶可作蔬菜,种子可炒食或炸油(Wu 等,

收稿日期: 2009-20-06 修回日期: 2010-08-12

基金项目: 上海市绿化管理局攻关项目(G069901); 国家自然科技资源平台项目(2005DKA21403)[Supported by Shanghai Municipal Afforestation Administration Project(G069901); National Science and Technology Resources Project(2005DKA21403)]

作者简介: 黄姝博(1983-),女,辽宁鞍山人,硕士研究生,从事资源植物学研究,(E-mail)51061300014@ecnu.cn.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: hqli@bio.ecnu.edu.cn)

1999)。目前买麻藤属植物的研究主要涉及植物化学(王健伟等,2006;Prakash等,1981;冯爱芬等,2006)、形态学(高信曾等,1989;Jáuregui等,2005)、分子系统学(Hansen等,1999;Soltis等,1999;Chaw等2000)、胚胎学、孢粉学(Yao等,2004)、营养学(Isong等,1999)等领域。

随着买麻藤属植物药用、食用价值的发掘,越来越多的野生资源被开发利用,野生种质资源呈现出减少的趋势,买麻藤(*Gnetum motanum*)被收录到濒危野生动植物种国际贸易公约(CITES)附录 III 中。在我国,买麻藤属内 8 个种进入了中国物种红色名

录:巨子买麻藤(*G. giganteum*)的评估等级为极危,细柄买麻藤(*G. gracilipes*)为濒危,灌状买麻藤(*G. gnemon*)、罗浮买麻藤(*G. lofuense*)和垂子买麻藤(*G. pendulum*)为易危,海南买麻藤(*G. hainanense*)、买麻藤(*G. montanum*)和小叶买麻藤(*G. parvifolium*)为近危几近符合易危,其中小叶买麻藤产于福建、广东、广西、云南、贵州、海南、湖南和江西,老挝、越南也有分布,生于海拔 100~1 000 m 常绿阔叶林中。姚振生等(1998)把小叶买麻藤列入井冈山珍稀濒危药用植物保护种类名录,而廖建良等(2004)将其列为广东罗浮山珍稀保护植物。

表 1 福建地区小叶买麻藤各种群的采样信息

Table 1 Site information of the populations surveyed in Fujian

种群 Population	采样地 Sample location	纬度 Latitude	经度 Longitude	采样数 Sample size
罗源县 LYX	罗源县霍口乡附近	26°26'57" N	119°18'02" E	24
福州市 FZ	福州市鼓山附近	26°03'18" N	119°23'29" E	8
福清市 FQ	福清市东张镇灵石公园附近	25°39'18" N	119°13'09" E	14
永泰县 YT	永泰县青云山青龙瀑景区附近	25°46'34" N	118°13'14" E	21
仙游县 XY	仙游县钟山镇九鲤湖车风寨景区附近	25°27'18" N	118°49'07" E	16
永春县 YC	永春县下洋镇牛姆林附近	25°26'00" N	117°55'51" E	23
平和县 PH	漳州平和县九峰镇大芹山附近	24°12'33" N	117°04'56" E	19
长泰县 CT	漳州长泰县亭下天柱山国家森林公园附近	24°37'11" N	117°52'35" E	23
龙岩市 LYS	龙岩市新罗区龙门镇紫金山附近	25°04'29" N	116°57'10" E	23
三明市 SM	三明市陈大镇瑞云山附近	26°21'17" N	117°39'01" E	20
南平市 NP	南平县溪源大峡谷附近	26°38'12" N	118°07'34" E	20

小叶买麻藤在福建省有广泛而较密集的分布,福建南平(26.6° N)是该种分布的北缘。在这个区域内开展小叶买麻藤遗传多样性研究,对理解小叶买麻藤现代分布格局的成因和致危机理具有重要意义。为此,本文选择该地区的小叶买麻藤进行 ISSR 遗传多样性分析,揭示小叶买麻藤的遗传多样性状况和遗传结构特点,以期研究该物种种群的退化机制提供基础资料,并为该物种的野生资源保护、合理开发利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 研究材料

根据种群取样的原则,我们在福建省内共采集到 11 个种群共 211 个样本。为避免采到同一克隆的不同分株,各个样本的间距原则上大于 10 m,罗源和福清种群分别有两个样本间距不足 10 m,在确定它们不为同株萌枝关系后采样。采样时间为 2007 年 8~11 月。取植株嫩叶,硅胶快速干燥并置 -20 °C 保存。采样地和采样数详见表 1 和图 1。我

们在连城县、顺昌县、建瓯市、宁德市的调查中未发现小叶买麻藤种群。

1.2 研究方法

小叶买麻藤总 DNA 的提取采用改良的尿素法(Sun等,2002)。PCR 反应在 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (TP600) 上进行。25 μ L 反应体系如下:模板(约 4 ng/ μ L) 1.0 μ L,引物(5 μ M) 2.5 μ L,10 \times Taq Buffer (Mg²⁺ free) 2.5 μ L, Mg²⁺ (25 mM) 1.5 μ L, dNTP Mixture (2.5 mM) 2 μ L, Taq 酶(2.5 U/ μ L) 0.4 μ L, ddH₂O 补至 25 μ L。扩增程序:94 °C 2 min; 94 °C 35 s, 52~55 °C 30 s, 7 °C 90 s, 35 个循环; 72 °C 7 min。电泳条件:PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳(1 \times TAE, 80 V) 分离,该凝胶含有 0.005% Goldview,用 1kb DNA Ladder 和 100k DNA Ladder 作为标准分子量对照。DNA 片段通过 VIL-BER LOURMAT 凝胶成像系统拍照。

2 数据分析

同一引物扩增产物的电泳谱带中,相同迁移位置

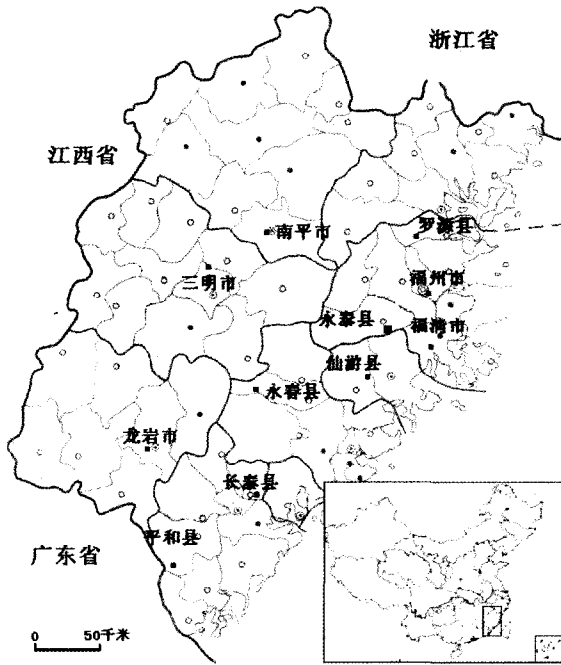


图 1 福建地区小叶买麻藤各种群样地分布图
Fig. 1 Map of Fujian with the sample locations indicated

2000)进行 UPGMA 聚类分析。

3 结果及分析

3.1 小叶买麻藤种群的遗传多样性

从 100 条引物中筛选出多态性高、重复性好的 13 条引物扩增 11 个种群 211 个个体,检测出清晰、可重复位点 131 个,其中多态性位点 115 个(表 2)。

表 2 引物序列、扩增为点数、多态位点数及多态位点百分率

Table 2 Primers used for ISSR amplification and number of bands per primer

引物 Primer	引物序列 5'-3' Sequence 5'-3'	扩增位点数 No. of bands scored	多态位点数 No. of PB
UBC807	(AG) ₈ T	12	12
UBC809	(AG) ₈ G	8	6
UBC811	(GA) ₈ C	13	13
UBC814	(CT) ₈ A	6	4
UBC823	(TC) ₈ C	10	9
UBC834	(AG) ₈ YT	15	13
UBC835	(AG) ₈ YC	9	7
UBC836	(AG) ₈ YA	10	9
UBC842	(GA) ₈ YG	9	8
UBC845	(CT) ₈ RG	8	6
UBC855	(AC) ₈ YT	10	8
UBC856	(AC) ₈ YA	13	13
UBC857	(AC) ₈ YG	8	7

Y=(C, T), R=(A, G), PB: polymorphic bands

在物种水平上,福建地区小叶买麻藤 $PPB=87.79\%$, $H=0.2202$, $SI=0.3412$, $H_s=0.2460$;在种群水平上,各种群平均 $PPB=48.02\%$, $H=0.1719$, $SI=0.2558$, $H_s=0.201$ 。假设哈温平衡的情况下,永泰县、永春县、龙岩市和罗源县种群的遗传多样性较高,平和县、三明市和福州市种群的遗传多样性较低。而从贝叶斯方法得出的遗传多样性来看,永泰县、永春县、龙岩市和罗源县种群的遗传多样性较高,平和县、三明市种群的较低。两种方法计算的结果基本一致,但福州种群的遗传多样性在两种算法里差异较大,这可能与该种群采样数偏少有关(表 3)。

3.2 小叶买麻藤种群的遗传结构

用三种方法分析小叶买麻藤的遗传分化程度:基因分化系数 $G_{st}=0.2282$ 、AMOVA 种群分化系数 $\Phi_{st}=0.2004$ ($P<0.001$)和 Bayesian 种群遗传分化值 $\theta_B=0.2050$ 。尽管三种方法分析的结果在数值上有差异,但是所揭示的福建地区小叶买麻藤种群间遗传分化的趋势是一致的,即约有 80%的遗

上有扩增带记为 1,无带记为 0,形成二元数据矩阵。使用 POPGENE 1.32(Yeh 等,1997),假设种群处于哈温平衡(Hardy-Weinberg Equilibrium),计算多态位点百分率(PPB)、Nei's 基因多样性指数(H)(Nei, 1973)和 Shannon's 信息指数(SI)(Lewontin, 1972)、种群遗传分化指数(G_{st})、Nei's 遗传距离(D)和遗传一致度(I)(Nei,1973)以及基因流 $N_m[(1/G_{st}-1)/4]$ 。

使用 Hickory 1.1 计算 Bayesian 基因多样性指数(H_s)和 Bayesian 种群遗传分化值 θ_B (F_{st} 近似值)。该方法不假设预知种群内近交程度,也不假设种群内基因型比例符合哈温平衡,可以充分利用显性标记提供的信息(Holsinger 等,2002)。贝叶斯法提供了四个模型,考虑到其他模型可能不合理地估计 f 值(近交系数 F_{st} 的近似值)而造成结果偏差,所以采用“ f -free”模型计算。

AMOVA 1.55 用于进行分子方差分析,计算种群间和种群内变化的方差分量和显著性水平(Excoffier 等,1992)(3000 次置换)。AMOVA 的输入文件由 DCFA 1.1(张富民等,2002)创建。

使用 TFGA 进行 Mantel 检验,检验地理距离与 Nei's 遗传距离之间的相关性(3 000 次置换);根据 Nei's 遗传距离,使用 NTSYS-pc 2.1(Rohlf,

传变异存在于种群内,约有 20% 的遗传变异存在于种群间,但种群之间的遗传分化极显著 ($P < 0.001$)。由 θ_B 计算出的基因流 ($N_m = 1.3629$) 大于由 G_{st} 算出的基因流 ($N_m = 0.8453$)。

表 3 福建小叶买麻藤 11 个种群的遗传多样性
Table 3 Genetic diversity of 11 *G. parvifolium* populations

种群 Population	多态位点百分率 PPB	Nei's 基因多样性指数 H	Shannon's 信息指数 SI	Bayesian 基因多样性指数 H_s
永泰县 YT	66(50.38 %)	0.1902±0.2069	0.2805±0.2973	0.2146±0.0083
永春县 YC	69(52.67 %)	0.1873±0.2056	0.2782±0.2929	0.2089±0.0076
龙岩市 LYS	73(55.73 %)	0.1873±0.1958	0.2823±0.2819	0.2094±0.0077
罗源县 LYX	69(52.67 %)	0.1801±0.1998	0.2698±0.2862	0.2084±0.0085
福清市 FQ	63(48.09 %)	0.1748±0.2050	0.2588±0.2930	0.2011±0.0100
长泰县 CT	68(51.91 %)	0.1740±0.1981	0.2612±0.2844	0.2038±0.0068
南平县 NP	60(45.80 %)	0.1736±0.2091	0.2548±0.2982	0.1995±0.0087
仙游县 XY	60(45.80 %)	0.1705±0.2078	0.2510±0.2961	0.2013±0.0086
平和县 PH	57(43.51 %)	0.1505±0.1973	0.2245±0.2828	0.1835±0.0085
三明市 SM	58(44.27 %)	0.1388±0.1843	0.2112±0.2680	0.1791±0.0077
福州市 FZ	49(37.40 %)	0.1371±0.1968	0.2027±0.2815	0.2015±0.0091
平均 Mean	62.91(48.02%)	0.1719±0.0172	0.2558±0.0246	0.2010±0.0052
物种水平 Total	115(87.79%)	0.2202±0.1849	0.3412±0.2543	0.2460±0.0060

表 4 福建地区小叶买麻藤 11 个种群间的 Nei's 无偏遗传一致度 (I) 和遗传距离 (D)

Table 4 Nei's unbiased measures of genetic identity and genetic distance

	LYX	FZ	FQ	YT	XY	YC	PH	CT	LYS	SM	PN
LYX	—	0.9500	0.9527	0.9328	0.9396	0.9385	0.9374	0.9362	0.9328	0.9095	0.9297
FZ	0.0513	—	0.9546	0.9271	0.9181	0.9315	0.9207	0.9409	0.9384	0.9044	0.9137
FQ	0.0484	0.0465	—	0.9419	0.9350	0.9415	0.9174	0.9400	0.9419	0.9267	0.9307
YT	0.0696	0.0757	0.0599	—	0.9622	0.9605	0.9287	0.9487	0.9391	0.9240	0.9439
XY	0.0623	0.0854	0.0672	0.0386	—	0.9611	0.9219	0.9482	0.9387	0.9307	0.9518
YC	0.0635	0.0710	0.0602	0.0403	0.0396	—	0.9360	0.9599	0.9599	0.9336	0.9569
PH	0.0647	0.0826	0.0862	0.0740	0.0813	0.0661	—	0.9562	0.9418	0.9306	0.9491
CT	0.0659	0.0610	0.0619	0.0527	0.0532	0.0409	0.0448	—	0.9694	0.9378	0.9440
LYS	0.0696	0.0635	0.0599	0.0628	0.0632	0.0409	0.0600	0.0311	—	0.9372	0.9473
SM	0.0948	0.1005	0.0761	0.0790	0.0718	0.0687	0.0719	0.0642	0.0648	—	0.9631
NP	0.0728	0.0903	0.0719	0.0578	0.0494	0.0441	0.0523	0.0576	0.0542	0.0376	—

对角线上方数据为遗传一致度,对角线下方数据为遗传距离

Nei's genetic identity(above diagonal)and genetic distance(below diagonal)

福建地区小叶买麻藤种群间的 Nei's 遗传一致度 (I) 范围为 0.9044~0.9694, 遗传距离 (D) 范围为 0.0311~0.1005(表 4), Bayesian 两两种群间遗传分化值 (θ_B) 范围是 0.1570~0.3482(表 5)。其中龙岩市 (LYS) 和长泰 (CT) 种群间的遗传一致度最高 ($I=0.9694$), 遗传距离最近 ($D=0.0311$), Bayesian 种群遗传分化值最小 ($\theta_B=0.1570$), 在 UPGMA 聚类图中也聚在了一起; 三明市 (SM) 和福州 (FZ) 的遗传一致度最低 ($I=0.9044$), 遗传距离最远 ($D=0.1005$), Bayesian 种群遗传分化值最大 ($\theta_B=0.3482$), 在 UPGMA 聚类图中也处于较远的位置(图 2)。

经 Mantel 检测(随机检测 3 000 次), 种群间 Nei's 遗传距离和地理距离之间存在显著正相关关系 ($r=0.4184, P=0.0063 < 0.05$), θ_B 与地理距离

之间也存在显著正相关关系 ($r=0.5273, P=0.0010$), 表明福建地区小叶买麻藤种群遗传变异的分布具有明显的地理相关性。

4 讨论

4.1 小叶买麻藤物种水平遗传多样性较高而种群水平遗传多样性较低

在物种水平上, 与已有研究报道的 7 种裸子植物相比, 小叶买麻藤具有较高的遗传多样性(表 6)。

据 Won(2005) 估计, 现存买麻藤属内各物种最早分化出现于距今 2900~1100 万年前, 在上渐新世至中新世期间经过跨海分布, 形成现在的南美洲、非洲和亚洲的世界分布格局。与银杏、水杉等第三纪

表 5 两两种群间的 θ_B 值和地理距离 (km)
Table 5 Pairwise population divergence values(θ_B)and geographical distances

	LYX	FZ	FQ	YT	XY	YC	PH	CT	LYS	SM	NP
LYX	—	47.2604	90.9561	132.9910	123.0028	179.3682	336.0590	250.5651	282.0818	165.2115	118.3945
FZ	0.1963	—	47.6907	121.8822	88.4725	162.5271	310.4972	220.9312	268.6244	177.5708	142.0695
FQ	0.2149	0.1942	—	101.2006	46.2480	131.9908	269.0938	177.7843	237.2240	175.1132	154.0261
YT	0.2727	0.2609	0.2279	—	69.8125	47.8430	208.1677	132.7131	149.3409	85.8222	95.8080
XY	0.2405	0.2626	0.2348	0.1760	—	89.3285	223.2743	132.6752	192.6113	153.7503	148.1271
YC	0.2485	0.2440	0.2289	0.1984	0.1688	—	160.4596	90.2937	106.2373	105.8779	134.7406
PH	0.2947	0.3172	0.3438	0.2924	0.3183	0.2683	—	92.4971	96.7670	244.4665	288.6902
CT	0.2683	0.2125	0.2495	0.2140	0.2057	0.1803	0.2099	—	106.0896	193.5435	224.8448
LYS	0.2735	0.2223	0.2373	0.2339	0.2419	0.1825	0.2488	0.1570	—	158.1384	209.2246
SM	0.3438	0.3482	0.3168	0.3056	0.2882	0.2667	0.3090	0.2805	0.2448	—	56.7992
NP	0.2949	0.3216	0.2908	0.2592	0.2238	0.1980	0.2418	0.2502	0.2300	0.2000	—

对角线上方数据为地理距离,对角线下方数据为 θ_B 值
Geographical distances(above diagonal)and θ_B values(below diagonal)

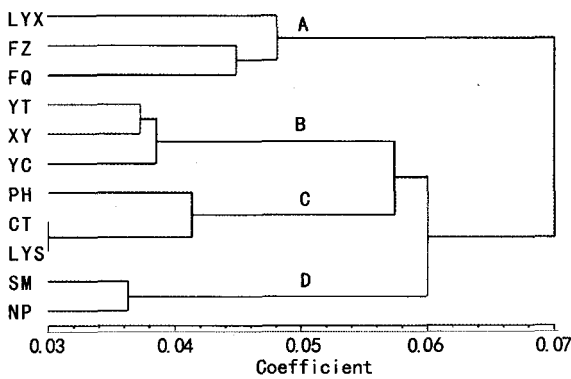


图 2 福建地区小叶买麻藤种群的 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图
Fig. 2 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance

质藤本,野外观察中,基径最大时为 90 mm,估计其年龄已超过 40 年,是雌雄异株植物,具有异交型繁育系统,本应具有较高的种群遗传多样性水平。其相对较低的种群遗传多样性水平产生的原因可能是多方面的。首先,小叶买麻藤种子体积较大,依靠重力或动物媒介散布种子,种群内植株间的近交几率较大。其次,人为的破坏也使小叶买麻藤种群水平遗传多样性丧失。

各种群间遗传多样性差异明显(H 在 0.1371~0.1902 之间)。福州、三明种群均位于游览景区内,虽然都保留了基径粗大的小叶买麻藤,但新生植株往往受到人为破坏,难以存活,种群个体数量少;平和种群所在环境已经开发成茶场、柚子林和竹林,仅见小叶买麻藤幼苗。永泰、永春、龙岩和罗源种群受到的人为破坏少,相应地种群遗传多样性也较高。

4.2 小叶买麻藤种群遗传分化程度中等,遗传漂变作用不显著

福建小叶买麻藤 Nei 的基因分化系数 $G_{st} = 0.2282$, AMOVA 种群分化系数 $\Phi_{st} = 0.2004$, 大致相当于文献(Nyborn 等,2000)中裸子植物 RAPD 数据的均值($G_{st} = 0.18$, $\Phi_{st} = 0.24$)。ISSR 分析显示,小叶买麻藤与穗花杉(Ge 等,2005)、翠柏(Wang 等,2004)、巧家五针松(Zhang 等,2005)和红松(吴隆坤等,2005)的种群遗传分化程度有较大的差别,穗花杉种群间遗传分化十分明显,小叶买麻藤次之,翠柏、巧家五针松和红松种群间遗传分化极低,表明小叶买麻藤种群间分化处于中等水平。

基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类结果表明,11 个种群主要分成 A、B、C、D 四支,地理上较近

子遗植物不同,包括小叶买麻藤在内的亚洲买麻藤属各种分化时间较晚,发生在距今 600~200 万年前被子植物繁盛的年代,其颈卵器完全退化,这是裸子植物最进化类群的性状。从小叶买麻藤的分化时间较晚和没有颈卵器来看,其物种具有较大的进化潜力,这与其较高的物种遗传多样性相一致。另外,福建地区没有经历 200 万年前的第四纪冰川(王绍鸿,2008),受冰期影响较小,也为该地区小叶买麻藤在物种水平上保持较高的遗传多样性创造了条件。

在种群水平上,小叶买麻藤的遗传多样性($H = 0.1719$)低于裸子植物($H = 0.386$)、多年生长命植物($H = 0.25$)和异交植物($H = 0.27$)的遗传多样性,显示小叶买麻藤种群遗传多样性不足。一般认为长命、异交植物具有较高的种群遗传多样性(Nyborn 等,2000)。本研究中小叶买麻藤为多年生木

的种群聚在一起。其中 A 支罗源、福州和福清种群地处以福州平原为中心的低海拔临海地区, 植被类型以经济林为主; B 支永泰、仙游、永春种群处戴云山脉的丘陵地区, 与 A 支种群间有齐云山—青云山阻隔; C 支龙岩、平和、长泰种群共处福建南部且地

理距离靠近; D 支三明、南平种群位于戴云山西侧, 与其他种群以鹞峰山—玳瑁山相隔。山脉的阻隔往往影响光照、温度、湿度等环境因子, 加之本研究不同种群间地理跨度较大, 随着地理位置变化, 小叶买麻藤各种群承受的选择压力也不同, 出现一定程度

表 6 小叶买麻藤与其他 7 种裸子植物的 ISSR 遗传多样性与遗传结构比较
Table 6 Comparison of genetic diversity and genetic structure between *G. parvifolium* and other 7 gymnosperm species based on ISSR data

物种 Species	PPB (%)	H _{sp}	SI	G _{st} (%)	Φ _{st} (%)	文献 Reference
小叶买麻藤 <i>Gnetum parvifolium</i>	87.79	0.2202	0.3412	22.82	20.04	本研究
红松 <i>Pinus koraiensis</i>	79.61	—	0.4504	5.63	—	吴隆坤等, 2005
油松 <i>Pinus tabulaeformis</i>	79.38	—	0.4468	13.56	—	Li 等, 2008
银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	70.45	0.2408	0.5599	14.76	14.26	葛永奇等, 2003
穗花杉 <i>Amentotaxus argotaenia</i>	64.77	0.1839	0.2868	72.60	72.60	Ge 等, 2005
贵州苏铁 <i>Cycas guizhouensis</i>	35.90	0.1082	0.1686	43.21	—	Xiao 等, 2004
翠柏 <i>Calocedrus macrolepis</i>	26.92	0.1160	0.1662	4.20	4.10	Wang 等, 2004
巧家五针松 <i>Pinus squamata</i>	12.30	0.0290	0.0480	2.40	2.43	Zhang 等, 2005

的种群遗传分化。

一般认为, $N_m > 0.5$ 或 $N_m > 1$ 时基因流足以抵抗因遗传漂变而产生的种群遗传分化(刘占林等, 1999)。本研究中由 G_{st} 得出的基因流 $N_m = 0.8453$, 而由 θ_B 计算出的基因流 $N_m = 1.3629$, 表明小叶买麻藤种群间存在一定的基因流, 在种群结构的维持中, 基因流的作用大于遗传漂变的作用。

基于种群地理距离和遗传距离的 Mantel 检测表明, 小叶买麻藤不同种群间的遗传距离与地理距离呈显著正相关, 种群分化呈现距离隔离(isolation-by-distance)格局, 表明基因流和选择是维持种群遗传结构的主要因素, 遗传漂变的作用不明显。

4.3 小叶买麻藤种群的退化机制和恢复措施

在福建, 杉木林、茶林、柚子林、竹林等经济林的大量开发破坏了小叶买麻藤天然的生态环境, 使其个体数量减少, 分布密度减小, 许多有过标本记录的地方已经找不到该物种生长了, 这也是本研究未能采到更多样本的重要原因。本研究结果显示: 小叶买麻藤物种遗传多样性较高, 种群分化程度中等, 遗传漂变作用不显著, 说明其种群退化的主要原因并非出于物种遗传多样性和遗传结构方面, 而源自人为干扰、生境破坏。

异交种群对近交衰退的耐性较差, 生境片段化引起种群变小时带来的遗传效应会加剧种群的衰退(陈小勇, 2000)。小叶买麻藤为多年生木质藤本植物, 世代较长, 更新速度较慢, 种群变小对遗传结构的影响不易在短时间内显现。同时, 该物种退化发

生的时间很短, 遗传漂变和近交的效应还没有随时间的积累而变得明显, 但在更大的时间尺度内, 这种效应必将显现并加剧种群衰退。

为保护和恢复小叶买麻藤种群, 建议重点保护较大种群, 尤其是遗传多样性水平较高的永泰、永春、龙岩和罗源种群。遗传多样性水平较低的福州、三明和平和种群, 应该给予特别重视, 加强植被保护, 尽量减少人为破坏, 以尽快恢复其原有种群数量。同时为防止瓶颈效应, 可通过种群间的个体移植, 提高种群遗传多样性水平。

参考文献:

- Burkill HM. 1994. The useful plants of west tropical Africa. Volume 2; Families E-I[M]. Kew: Royal Botanic Gardens
- Chaw SM, Parkinson CL, Cheng Y, et al. 2000. Seed plant phylogeny from all three plant genomes; monophyly of extant gymnosperms and origin of Gentales from conifers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**:4 086—4 091
- Chen XY(陈小勇). 2000. Effects of habitat fragmentation on genetic structure of plant populations and implications for the biodiversity conservation(生境片段化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护)[J]. *Acta Ecol Sin(生态学报)*, **9**(20):96—99
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. *Genetics*, **131**:479—491
- Feng AF(冯爱芬), Lu ZH(卢宗辉), Li XC(李熙灿). 2006. Research progress on chemical constituents of genus *Gnetum*(买麻藤属植物的化学成分研究进展)[J]. *J Chin Med Mat(中药材)*, **29**(9):989—993

- Gao XZ(高信曾), Chen YT(陈耀堂), Deng YF(邓岳芬). 1989. The anomalous secondary growth of roots in *Gnetum montanum* (买麻藤根的异常次生长)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), 7(2): 119—122
- Ge XJ, Zhou XL, Li ZC, et al. 2005. Low genetic diversity and significant population structuring in the relict *Amentotaxus argotaenia* complex(Taxaceae) based on ISSR fingerprinting[J]. *J Plant Res*, 118: 415—422
- Ge YQ(葛永奇), Qiu YX(邱英雄), Ding BY(丁炳扬), et al. 2003. An ISSR analysis on population genetic diversity of the relict plant *Ginkgo biloba* (孑遗植物银杏群体遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), 11(4): 276—287
- Hansen A, Hansmann S, Samigullin T, et al. 1999. *Gnetum* and the angiosperms: molecular evidence that their shared morphological characters are convergent, rather than homologous[J]. *Mol Biol Evol*, 16(7): 1 006—1 009
- Holsinger KE, Lewis PO, Dey D. 2002. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers[J]. *Mol Ecol*, 11: 1 157—1 164
- Isong EU, Adewusi SAR, Nkanga EU, et al. 1999. Nutritional and phytochemical studies of three varieties of *Gnetum africanum* ('afang')[J]. *Food Chem*, 64: 489—493
- Jáuregui D, Benítez de Rojas C. 2005. Morphological aspects and leaf anatomy of the species of *Gnetum* L. (Gnetaceae-Gnetophyta) present in Venezuela[J]. *Acta Bot Venezuela*, 28(2): 349—368
- Lewontin RC. 1972. The apportionment of human diversity[J]. *Evol Biol*, 6: 381—398
- Li C, Chai BF, Wang MB. 2008. Population genetic structure of *Pinus tabulaeformis* in Shanxi Plateau, China[J]. *Russ J Ecol*, 39(1): 34—40
- Liao JL(廖建良), Zhou TL(周天来), Song GH(宋冠华), et al. 2004. Protection and management of the rare plants in Luofushan(罗浮山珍稀植物的保护与管理)[J]. *惠州学院学报(自然科学版)*, 24(6): 33
- Liu ZL(刘占林), Zhao GF(赵桂仿). 1999. Population genetics and its implications for conservation of rare and endangered plants(居群遗传学原理及其在珍稀濒危植物保护中的应用)[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), 7(4): 340—346
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 70: 3 321—3 323
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. *Genetics*, 89: 583—590
- Nyborn H, Bartish IV. 2000. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants[J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 3(2): 93—114
- Prakash S, Ahmed J, Zaman A, et al. 1981. Acetophenone and stilbene derivatives from *Gnetum ula*[J]. *Phytochemistry*, 20(4): 1 455—1 456
- Rohlf FJ. 2000. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2. 1[M]. New York: Exeter Software
- Soltis PS, Soltis DE, Chase MW. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology[J]. *Nature*, 402: 402—404
- Sun Y, Zhang W, Li F, et al. 2002. Identification and genetic mapping of four novel genes that regulate leaf development in *Arabidopsis*[J]. *Cell Research*, 10: 325—335
- Wang DL, Li ZC, Hao G, et al. 2004. Genetic diversity of *Calocedrus macrolepis* (Cupressaceae) in southwestern China[J]. *Biochemical Systematics Ecol*, 32: 797—807
- Wang JW(王健伟), Lian JY(梁敬钰). 2006. Research progress on chemical constituents and pharmacological effect of genus *Gnetum*(买麻藤属植物的化学成分及其药理活性研究进展)[J]. *Strait Pharm J*(海峡药学), 18(2): 15—20
- Wang SH(王绍鸿). 2008. No Quaternary glacier ever existed in Fujian(福建第四纪不可能有冰川活动)[J]. *J Subtrop Res Environ*(亚热带资源与环境学报), 3(1): 83—88
- Watt JM, Breyer-Brandwijk MG. 1962. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa[M]. Edinburgh: E & S Livingstone
- Won H. 2005. Phylogeny and biogeography of *Gnetum*(Gnetales)[D]. St. Louis: University of Missouri-St. Louis
- Wu LK(吴隆坤), Li Y(李岩). 2005. Comparison of genetic diversity of *Pinus koraiensis* in two national nature reserves by ISSR marker(凉水、丰林国家自然保护区红松遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. *J Shenyang Normal Univ(Nat Sci)*(沈阳师范大学学报: 自然科学版), 2: 204—206
- Wu ZY, Raven PH. 1999. Flora of China[M]. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 4: 102—105
- Xiao LQ, Ge XJ, Gong X, et al. 2004. ISSR variation in the endemic and endangered plant *Cycas guizhouensis* (Cycadaceae)[J]. *Ann Bot*, 94(1): 133—138
- Yao YF, Xi YZ, Geng BY, et al. 2004. The exine ultrastructure of pollen grains in *Gnetum*(Gnetaceae) from China and its bearing on the relationship with the ANITA Group[J]. *Bot J Linnean Soc*, 146: 415—425
- Yao ZS(姚振生), Zhang ZQ(张琮琼), Ge F(葛菲), et al. 1998. Species of rare endangered medicinal plants in Jinggangshan(井冈山珍稀濒危药用植物种类)[J]. *Jiangxi Sci*(江西科学), 16(4): 251
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T, et al. 1997. POPGENE, the user friendly shareware for population genetic analysis[M]. Edmonton: University of Alberta
- Zhang FM(张富民), Ge S(葛颂). 2002. Data analysis in population genetics. I. Analysis of RAPD data with AMOVA(群体遗传学研究中的数据处理方法. I. RAPD 数据的 AMOVA 分析)[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), 10(4): 438—444
- Zhang ZY, Chen YY, Li DZ. 2005. Detection of low genetic variation in a critically endangered Chinese pine, *Pinus squamata*, using RAPD and ISSR markers[J]. *Biochemical Genetics*, 43: 239—249